中華農業研究（Jour. Agric. Res. China）36(3)：311～316（1987）

瓜類露菌病室內接種試驗[1]

蔡 武 雄[2]

摘要：於試驗室內利用瓜類之摘葉培養瓜類露菌病菌（*Pseudopenospora cubensis*），由於摘葉之葉柄可以生出鬚根，吸收水分，延長摘葉之保鮮時間，使病原菌保存在摘葉一個月以上。一般在胡瓜摘葉後7－9天，洋香瓜7－13天即可生出鬚根。瓜類露菌病菌在15°C, 20°C及25°C接種於瓜類葉片4－5天後即可產生病斑，而5－6天後即可產胞。瓜類葉片正背兩面在產生病斑及產胞上無差異。病原菌胞子囊發芽以10°C及15°C最適，在6小時後發芽率達95.18%及97.52%，高溫時發芽率降低。胞子囊釋放游走子之數目以7個最多，3個及11個者最少，平均爲6.7個。室內瓜類露菌病之接種步驟可參考本文圖2方法行之。

瓜類露菌病係由 *Pseudoperonospora cubensis* 引起之病害，在本省於胡瓜、洋香瓜及其他瓜類產區發生普遍而且嚴重。目前對於本病之防治唯賴施用農藥，但施用農藥亦常不能達到預期的防治效果，故是否病原菌產生抗藥性[4,5]或有其他原因均待探討。由於本病原菌係絕對寄生菌，不能在人工合成之培養基上培養，致使有些室內研究工作受到限制。筆者[1]發現利用瓜類葉片之摘葉在培養皿內培養時，可由葉柄處生出鬚根，吸收水分，延長保鮮期間，有利於病原菌之接種及保存。現僅就本病在室內接種方法及步驟寫成報告，供作參考。

材料與方法

1.供試植株培育

胡瓜（豐中種苗5號）及洋香瓜（日陞）種子浸於水中，24小時後取出放在培養皿內之濾紙上，濾紙加無菌水，使其保持濕度。然後放在25°C之定溫箱中，經72小時後，種子發芽，取出種於直徑10公分之植缽中。植株置於25°C之室內，每天早上6時到下午6時以40W的植物生長燈照射，經20—25天即可供摘葉使用。生長期間需注意白粉病（Powdery mildew）之防治及徒長的抑制。白粉病以25%蟎離丹（Morestan）可濕性粉劑1000倍每隔15天噴灑一次，徒長之抑制以生長抑制劑CCC（2-chlorethyltrimethyl-ammonium chloride）2000倍每隔10天噴灑一次。植株培育60天以後即淘汰。

2.葉序生根試驗

從植株頂端展開葉由葉柄處向下剪下第1，第2及第3葉片，在葉柄包以吸滿無菌水之棉花塊，然後放在直徑10公分培養皿內之濾紙上，濾紙加無菌水，以保持濕度，最後培養皿置於25°C之定溫箱中，每葉序3葉片，重複3次。

3.摘葉葉柄生根與溫度之關係

由植株頂端向下第2葉片，由葉柄處剪下，在葉柄處包以吸滿無菌水之棉花塊，然後放在直徑10

1.臺灣省農業試驗所　研究報告第1364號。

2.本所嘉義農業試驗分所植物保護系副研究員。臺灣省　嘉義市。

公分之培養皿內之濾紙上，濾紙加無菌水，以保持濕度，最後將培養皿放在 10，15，20，25，30 及 35°C 之定溫箱中，每不同溫度 3 葉片，重複 3 次。

4.瓜類露菌病病斑形成及產胞與溫度之關係

由田間採回之瓜類露菌病葉片以洗滌瓶用無菌水將葉片表面之胞柄及胞子囊冲洗掉，然後將葉片放在培養皿內之濕濾紙上，置於 25°C 之定溫箱中，經24小時後取出病葉，將新生成胞子囊之葉片切成 1 公分正方之小片放在試管之無菌水中振盪，做成胞子懸浮液（4×10^4/ml）以小型噴霧器噴於葉片之背面，接種後之葉片放在培養皿內之濾紙上，加入無菌水，以保持濕度，最後培養皿置於10，15，20，25，30及 35°C 之定溫箱中，觀察病斑形成及產胞所需日數，每不同溫度每次 3 葉片，重複 2 次。

5.摘葉葉片正面及背面病斑形成及產胞所需日數

如試驗 4 之方法，將胞子懸浮液噴於摘葉葉片之正面及背面，接種後置於 20°C 之定溫箱中，觀察病斑形成及產胞所需日數，每處理 5 葉片，重複 2 次。

6.瓜類露菌病菌胞子囊在不同溫度下發芽之情形

將接種後 1 週之洋香瓜病葉上之胞子囊以洗滌瓶裝無菌水冲掉以後，放置在 25°C 之定溫箱 1 天後，以刀片切成 1 公分正方之病葉及胞子囊，置於試管之無菌水中，然後放在振盪器上，洗下胞子囊，做成胞子懸浮液，以吸管吸取少量之胞子懸浮液置於凹形之載玻片上，再分別放在10，15，20，25，30及 35°C 之定溫箱中，經 2，4 及 6 小時後取出，在150 倍之顯微鏡下觀察，每玻片隨機鏡檢 3 視野，記錄胞子囊發芽率。本試驗每溫度玻片 3 片，每次18片，重複 3 次。

7.露菌病菌胞子囊釋放游走子之數目

以吸管吸取胞子懸浮液滴在凹形載玻片上，以蓋玻片蓋上，放在 25°C 之定溫箱中 1 小時後取出在150倍之顯微鏡下觀察單個胞子囊釋放游走子之數目。

結 果

1.葉序生根試驗

胡瓜葉片經 7－9 天，洋香瓜經 7－13天即由葉柄處長出鬚根，鬚根可在濾紙上生長蔓延，胡瓜葉片在培養皿內可保持新鮮綠色 3－6 週，而洋香瓜可保持 2－4 週，葉序第 1 、第 2 及第 3 葉片在生根及保持綠色無甚差異（表 1）。

表1. 瓜類摘葉葉柄生根及保持綠色之日數 (25°C)[1]

Table 1. Days for root formation and greenish color maintained on the detached leaves of cucurbits.

葉序 Leaf position from top	胡瓜 *Cucumis sativus* L.	洋香瓜 *Cucumis melo* L.
1	7—9[2] (21—42)[3]	7—13 (14—30)
2	7—9 (20—40)	7—13 (15—32)
3	7—9 (22—45)	7—13 (13—30)

1 每處理 3 葉片，重複 3 次。Three leaves for each treatment with three replications.

2 生根所需日數。Days for root formation.

3 保持綠色期間（⅔葉片綠色，⅓葉片變黃）。Duration for greenish color maintained (2/3 of leaf remained in green and 1/3 of leaf was yellowing).

2.摘葉葉柄生根與溫度之關係

不同溫度對生根的影響，胡瓜及洋香瓜均以 30°C 最快，其次爲20及 25°C，胡瓜在 15°C生根最慢。胡瓜在10及 35°C 不生根，洋香瓜在10，15及 35°C 均不生根（表2）。

表2. 溫度對瓜類摘葉葉片之生根與保持綠色之影響

Table 2. Effect of temperature on the root formation and green maintenance of detached leaves of cucurbits.

溫度 Temperature (°C)	生根所需日數 Days for root formation		綠色維持日數[2] Days of green maintenance	
	胡瓜 *C. sativus* L.	洋香瓜 *C. melo* L.	胡瓜 *C. sativus* L.	洋香瓜 *C. melo* L.
10	—[1]	—	10 — 19	14 — 19
15	14 — 20	—	21 — 30	10 — 15
20	7 — 9	8 — 13	22 — 47	15 — 30
25	7 — 9	7 — 13	21 — 45	15 — 30
30	5 — 7	5 — 10	18 — 25	14 — 21
35	—	—	5 — 6	5 — 6

1 不生根。No root formation.

2 綠色標準：⅔以上之葉面積爲綠色。Green was based on 2/3 or more of the leaf area was green.

3.瓜類露菌病病斑形成及產胞與溫度之關係

胡瓜或洋香瓜之葉片在15，20及 25°C 接種後4—5天可形成病斑，在15及 20°C 經5—6天，在 25°C 經6—8天後產胞，但在10，30及 35°C 不產生病斑，亦不產胞（表3）。

表3. 瓜類露菌病菌（*Pseudoperonospora cubensis*）接種在瓜類病斑形成與產胞所需日數與溫度之關係1

Table 3. Effect of temperature on lesion formation and sporulation of *Pseudoperonospora cubensis* on the detached leaves of cucurbits

溫度 Temperature (°C)	病斑形成所需日數 Days for lesion formation	產胞所需日數 Days for sporulation
10	—[2]	—
15	4 — 5	5 — 6
20	4 — 5	5 — 6
25	4 — 5	6 — 8
30	—	—
35	—	—

1 正處理3葉片，重複2次。Three leaves for each treatment with two repliicatons.

2 不形成病斑及不產胞。No lesion formation and no sporulation.

4.摘葉葉片正面及背面病斑形成及產胞所需日數

葉正面及葉背面在 20°C 下病斑形成所需日數均爲4—5天，產胞所需日數亦均爲5—6天，故葉正面及背面在病斑形成及產胞均無差異。

5.瓜類露菌病菌胞子囊在不同溫度下發芽之情形

胞子囊在不同溫度下之發芽以 10及 15°C 發芽率最高，在 10°C 時經2小時即有73.68%發芽，

6小時後發芽率達95.18%，在15°C經2小時有59.68%發芽，6小時後發芽率達97.52%，但在20°C下經6小時僅24.35%發芽，溫度越高，發芽率越低（表4）。

表4. 瓜類露菌病菌胞囊在不同溫度下之發芽率（%）*

Table 4. Percent germination of sporangium under different temperatures.

溫度 Temperature (°C)	時間 Time		
	2 小時 (hr.)	4 小時 (hr.)	6 小時 (hr.)
10	73.68	91.98	95.18
15	59.68	94.85	97.52
20	12.33	15.41	24.35
25	7.15	7.89	8.00
30	1.79	4.44	6.74
35	0.34	2.64	4.70

* 三次之平均值 Average of three replications.

6.露菌病菌胞子囊釋放游走子之數目

在所觀察的35個胞子囊所釋放之游走子數目，其中以釋放7個游走子者最多，再為6個，而以釋放3個及11個者最少，平均為釋放6.7個（圖1）。

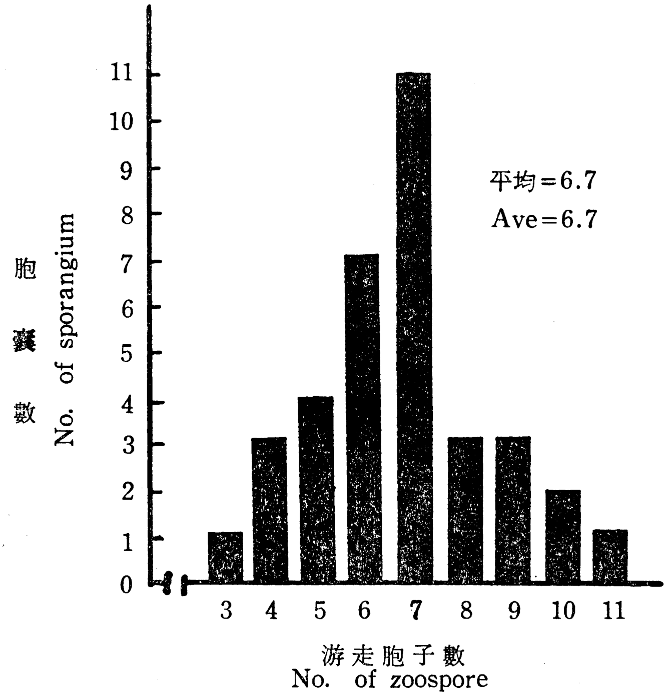

圖1. 游走胞子囊釋放之游走胞子數

Fig. 1. Number of zoospore released by sporangium

討　　論

瓜類露菌病在本省瓜類栽培地區，如雲林縣水林鄉，嘉義縣太保鄉及臺南縣七股鄉等地，發病普遍而且嚴重，往往導致減產，造成損失。目前防治本病的方法僅靠農藥防治，但農民在使用農藥以後常常抱怨防治效果未達理想。根據推測，或有病原菌產生抗藥性的可能，因爲瓜農在病害發生期間，常縮短施藥間隔，並增加施藥次數，尙不能抑制病勢的進展，此有待進一步探討。有關病原菌的生態已有綜合性的報導(3)，但由於病原菌爲絕對寄生菌，無法在人工合成之培養基上培養，所以室內研究常受到限制。本接種方法甚爲簡單，摘葉在培養皿內可由葉柄生出鬚根，吸收水分，延長保綠期間，使病原菌在摘葉上達一個月以上，然後又可再移植到新葉片上，如此病原菌可長久保存在培養皿內，其接種步驟可綜合如圖2。

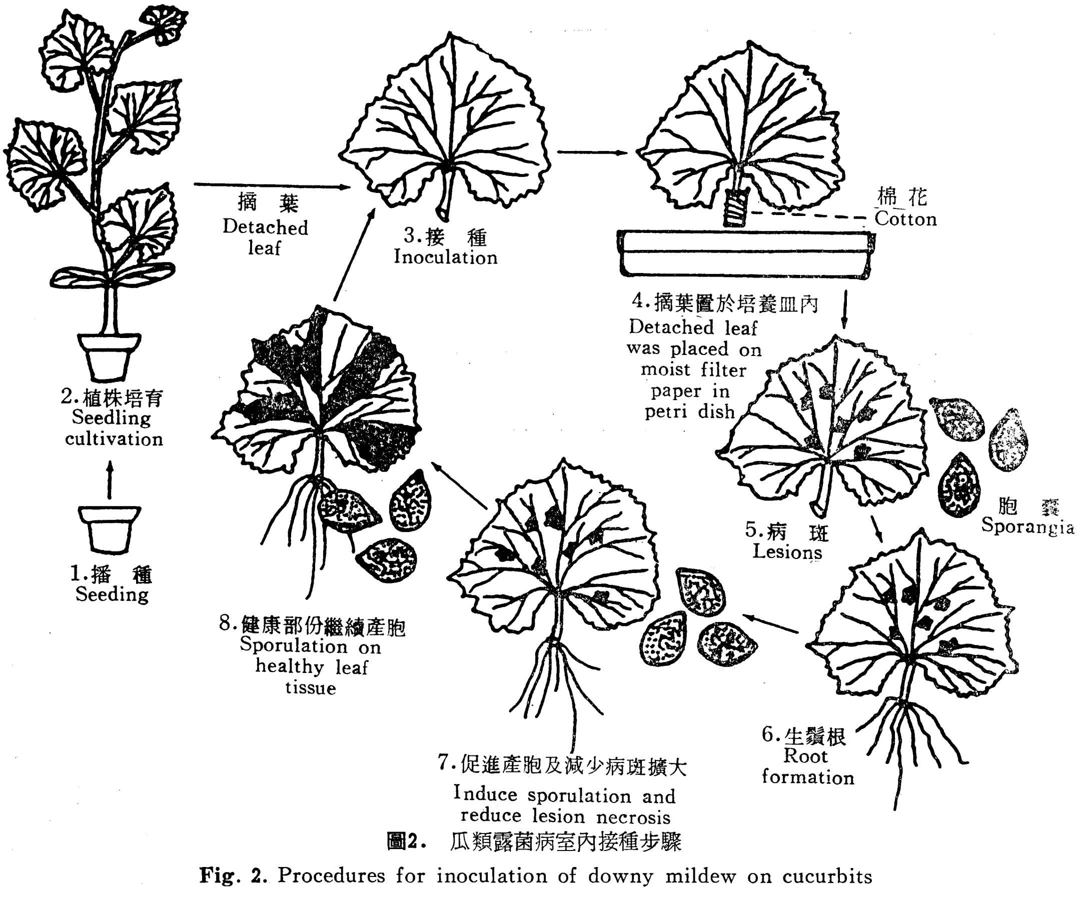

圖2. 瓜類露菌病室內接種步驟

Fig. 2. Procedures for inoculation of downy mildew on cucurbits

1.播種。2.植株培育：於室內 25°C，每天以 40W 植物燈照射12小時，經20～25天可供摘葉。生長期間需注意白粉病防治及徒長的抑制，白粉病防治以25%蟎離丹 (Morestan) 可濕性粉劑 1,000 倍每隔 15 天噴灑一次，徒長之抑制以生長抑制劑 CCC (2-chloroethyl trimethylammonium chloride) 2.000倍每隔10天噴灑一次。植株培育60天即淘汰換新。3.摘葉接種。4.摘葉置於殺菌之培養皿內，葉柄覆蓋棉花塊，放二張濾紙於培養皿內，並加無菌水，以保持濕度。5.於 25°C 下經4～5天產生病斑及胞囊。6.經七天葉柄基部長出鬚根，其功用可延長葉片於培養皿內之保鮮期間。7.移至 15°C 定溫箱內，可防止病斑快速擴大，並可促進產胞。8.於 15°C 定溫箱內移至 25°C 1天可使病斑擴展至健康部分，並繼續產胞。

胡瓜及洋香瓜摘葉葉柄生根之溫度範圍，前者在 15—30°C，後者在 20—30°C，在 10°C 下兩者葉片均有凍傷的現象，在 35°C 下則葉片黃化甚速。產胞能力根據報告 (2) 以 15°C 或日夜為 20：15°C 時產胞最高，而本試驗結果顯示在 15—20°C 產生病斑及產胞最好，但在10，30及 35°C 則不發病亦不產胞。一般在田間產胞主要在葉背面，但在試驗室行人工接種時葉正面及葉背面在發病及產胞上並無差別。病原菌胞子囊之發芽率以10及 15°C 最好，溫度越高，發芽率越低，胞子囊所釋放之游走子數目以 7 個為最多，平均為6.7個。

參考文獻

1.蔡武雄・1985・瓜類露菌 (*Pseudoperonospora cubensis*) 之培養。植保會刊27：456
2. Cohen, Y. and J. Rotem. 1971. Rate of lesion development in relation to sporulation potential of *Pseudoperonospora cubensis* in cucumber. Phytopathology 61 : 265-268.
3. Cohen, Y. 1981. Downy mildew of cucurbits. *In* The Downy Mildew. ed. by Spencer, D. M., pp. 341-354. Academic Press, New York and London.
4. Katan, T. and E. Bashi. 1981. Resistance to metalaxyl in isolates of *Pseudoperonospora cubensis* to downy mildew pathogen of cucurbits. Plant Disease 65 : 798-800.
5. Reuvein, M., H. Eyal and Y. Cohen. 1980. Development of resistance to metalaxyl in *Pseudoperonospora cubensis*. Plant Disease 64 : 1108-1109.

Inoculation of Downy Mildew on Cucurbits under Laboratory Conditions [1]

W. H. Tsai [2]

Summary

Inoculation of downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*) on detached leaves of cucurbits were studied. Due to the root formation on the petioles of the detached leaves to absorb water, the detached leaves prolonged the fresh period in the petri dishes. Hence, the pathogen could be maintained on the detached leaves over one month. In general, root formation on the detached leaves was, observed 7—9 days on *cucumis sativus* L. and 7—13 days on *cucumis melo* L. The lesion formed at 4—5 days and sporulation at 5—6 days after seperated inoculation under 15, 20 and 25°C. No difference was observed on lesion formation and sporulation on both upper and lower leaf surfaces Lesion formation and sporulation were observed 4—5 days and 5—6 days after inoculation, respectively. The optimum temperature for sporangium germination were observed at 10°C and 15°C after 6 hours of incubation, the percentage of germination were 95.18 % and 97.52%, respectively. Germination decreased at higher temperature. Most sporangium produced seven zoospores with an average number of 6.7, a few sporangia produced 3 or 11 zoospores. The procedures for inoculation of downy mildew on cucurbits under laboratory conditions are shown on Fig. 2.

---

1. Contribution No. 1364 from Taiwan Agricultural Research Institute (TARI).
2. Plant Pathologist, Chia-yi Agricultural Experiment Station, TARI. Chia-yi, Taiwan, ROC.